

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

a.

(11)Publication number : 11-101942
(43)Date of publication of application : 13.04.1999

(51)Int.Cl. G02B 21/00

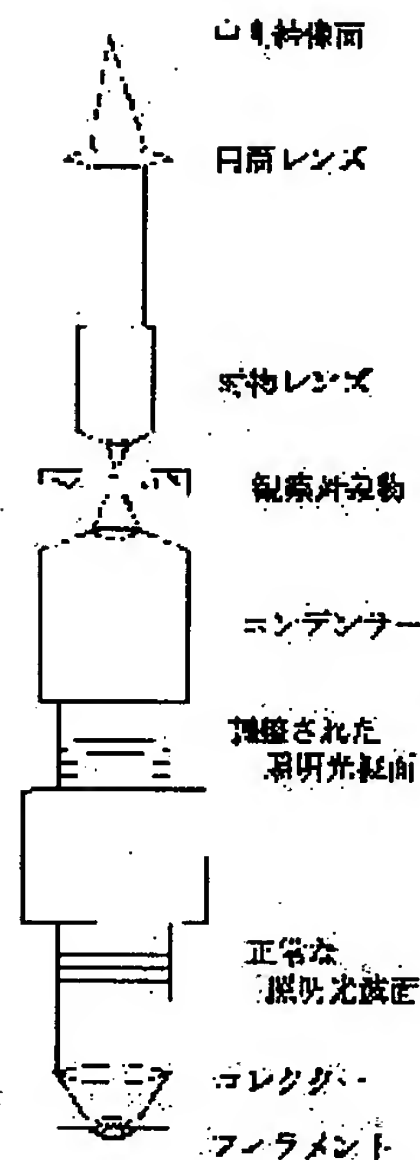
(21)Application number : 10-214675 (71)Applicant : CARL ZEISS JENA GMBH
(22)Date of filing : 29.07.1998 (72)Inventor : SIMON ULRICH
WOLLECHENSKY RALF
GLUCH MARTIN
GRUB ROBERT DR
FAULSTICH ANDREAS
VOELCKER MARTIN DR

(30)Priority
Priority number : 97 19733193 Priority date : 01.08.1997 Priority country : DE

(54) ADAPTIVE OPTICAL DEVICE FOR MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To apply one or more wave front modulators in the observing light and/or illuminating light of an optical microscope to an ordinary microscope by arranging an adaptive optical device in the observing optical path of the optical microscope.
SOLUTION: By incorporating an adaptive optical system in the optical path of illuminating light, the soft interpretation of the optical system, the improvement of the optical individuality of the microscope and new illumination technique are realized. A wave front phase modulator optimizes the image formation of an illumination filament (laser if necessary) on an object plane in the same manner even in the optical path of the observing light. In the case of delicate illumination, uniform illumination is set for an object space in the same manner. In such a case, the wave front modulator is installed between a collector and a condenser inserted behind the illumination filament. The intensity and the homogeneity of the illuminating light are spatially optimized on the object plane by the wave front modulator.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office

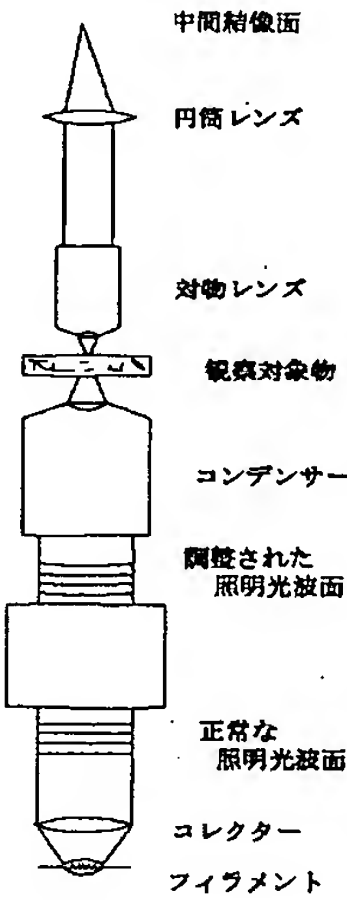
BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P) (12) 公開特許公報 (A) (11) 特許出願公開番号
特開平11-101942
(43) 公開日 平成11年(1999) 4月13日

(51) Int.Cl. ⁶ G 0 2 B 21/00	識別記号 F I G 0 2 B 21/00	審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 9 頁)
(21) 出願番号 特願平10-214675 (22) 出願日 平成10年(1998) 7月29日 (31) 優先権主張番号 1 9 7 3 3 1 9 3 . 9 (32) 優先日 1997年8月1日 (33) 優先権主張国 ドイツ (D E)	(71) 出願人 396000455 カール ツァイス イエナ ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング ドイツ D-07745 イエナ タッツェン ドブルムナーデ 1 a (74) 代理人 弁理士 松田 省躬	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 顕微鏡におけるアダプティブ光学装置

(57) 【要約】
【課題】顕微鏡の観察光、および／または照明光内における1つ以上の波面変調器を、通常の顕微鏡への応用
【解決手段】光学式顕微鏡の観察光光路あるいは照明光路に透過式波面変調器あるいは反射式波面変調器のようなアダプティブ光学装置を配置した



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】光学式顕微鏡の観察光光路にアダプティブ光学装置を配置した光学装置

【請求項2】アダプティブ光学装置が、対物レンズと円筒レンズの間に配置した透過式波面変調器である請求項1に記載の光学装置

【請求項3】アダプティブ光学装置が、対物レンズと円筒レンズの間にビーム・スプリッターを経由して結合した反射式波面変調器である請求項1に記載の光学装置

【請求項4】光学式顕微鏡の照明光光路に波面変調器を配置した光学装置

【請求項5】波面変調器が、光源とコンデンサーの間に配置されている請求項4に記載の光学装置

【請求項6】波面変調器が透過式波面変調器である請求項4に記載の光学装置

【請求項7】レーザーよりも下位に少なくとも1つのアダプティブ光学系を有するレーザー走査式顕微鏡

【請求項8】アダプティブ光学系が粗調整および微調整のために2個設けられている請求項7に記載のレーザー走査式顕微鏡

【請求項9】アダプティブ光学系が反射式波面変調器である請求項7に記載のレーザー走査式顕微鏡

【請求項10】レーザーが短波長パルス・レーザーである請求項7、8あるいは9に記載のレーザー走査式顕微鏡

【請求項11】追加としてプリチャージ・ユニットが設けられている請求項7、8、9あるいは10に記載のレーザー走査式顕微鏡

【請求項12】多光子励起のために短波長パルス・レーザーが備えられているレーザー走査顕微鏡の光路にプリチャージ・ユニットとアダプティブ光学系が組合わせて設けられている請求項11に記載のレーザー走査式顕微鏡

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、顕微鏡の観察光、および／または照明光内における1つ以上の波面変調器を、通常の顕微鏡への応用することに関する。変調器は、対象物空間内での焦点の形成とスライドばかりでなく、場合によっては収差も補正される作用を目的として、光の位相および／または振幅を変化させる。適用範囲としては、共焦点顕微鏡、レーザー装備の顕微鏡、従来の光学式顕微鏡、および分析用顕微鏡が含まれる。

【0002】本発明における「波面変調器」は、光波の位相および／または振幅に目的とする作用を与えるための装置である。反射してくる1つの光学要素（変形可能なミラー、すなわち電子的誘導制御、または圧電素子アレイにより誘導制御されるミラー、あるいはバイモルフ素子ミラー）、または透過式光学要素（LCD、または類似の集積ユニット）に基づくものを指す。この要素

は、連続的、または区分的に構成可能である。とくに、これらの部分は、その都度問題となる位置に対して適合するように誘導制御することが可能である。

【0003】脱焦走査モードの場合に生じる顕微鏡における対物レンズの収差は、原則として補正可能な範囲と補正不可能な範囲に分類することができる。これらの収差の原因としては、対物レンズに起因するもの、顕微鏡の先の画像形成光学部分によるもの、および顕微鏡の組織標本自体に起因するものとに分類することができる。

【0004】適切なソフトウェアを備えたコンピュータにより行う波面変調器の誘導制御における、必要な位置の大きさは、あらかじめ計算（オフラインで）されるか、または測定値から計算される（オンライン、たとえば、波面センサー、または中間像における点輝度の測定による）。

【0005】

【従来の技術】従来公開されている関連特許は以下に列挙する通りである。

・米国特許 US 4408874、W. ジンキー、
20 L. ローゼンベルク（1981/83）リソグラフィにおいて画像再生システム用に非点倍率を調節するための機械的または空圧的に変形可能な光学要素。

・欧州特許 EPO 0098969 B1、J. アーノルド（1983/87）非点調整のために変形可能な光学要素。鏡面膜に外力を加えて曲げた場合、あらかじめ計算した形状になるように、鏡面膜の厚さが表面上で変化する。

・欧州特許 EPO 0307354 B1、H. 緒ファット（1988/92）たとえば、顕微鏡の対物レンズ等の構成要素を軸方向に精密調整するために、バイモルフ圧電薄膜素子で構成されるリング状の配列。

・米国特許 US 5142132、B. マクドナルド、R. ハンター、A. スミス（1991/92）ウェーハ製造用にアダプティブ制御される光学システム（ステッパー：ステップ式投影露光装置）。補正は、ウェーハからの反射光と元の光との干渉によって得られる。収差補正のための正確な方法は記述されていない。

・ドイツ特許 DE 3404063 C2、A. スズキ、M. コーノ（1984/93）画像再生誤差、とくに横方向の焦点ずれを補正するための画像再生システム光路内の屈折透過メンブレン。

・米国特許 US 5504575、R. スタッフォード（1993/96）三次元光変調器と分散要素にもとづく分光器。分散要素通過後の光を検出器に接続するために応用されたファイバー、オプティカル・スイッチ、およびフレキシブル・ミラー。

・欧州特許 EPO 167877、ビレ、ハイデルベルク・インストルメント社（出願1985年）アダプティブ・ミラーを備えた検眼鏡

【0006】

【発明が解決しようとする課題】通常の光学式顕微鏡の場合も、レーザー式顕微鏡の場合も同様に、対物レンズの焦点は、より高い精度で光学軸方向だけでなく、横方向にも同様にその位置スライドの必要がある。これは、従来の顕微鏡の場合は、観察対象物、あるいは対物レンズを機械的にずらすことによって行っている。それに加えて、レーザー光で照射する場合には、対象物空間でのスライドはどうしても必要となる。結局、対象物空間内で3次元的な焦点スライドが是非とも必要となる。顕微鏡の原理から、これらのスライドは、光路の波面でも行うことができる。いずれにしても、この操作は光路の瞳孔面で行われることが必要である。対象物内における焦点のスライドは、波面の球面変化、すなわち波面の傾きの横方向スライドに相当する。

【0007】

【発明の実施の形態】

従来の光学式顕微鏡における応用

1-1 観察光光路

対象物空間における焦点の軸方向スライドを対物レンズと対象物との距離に変更を伴わずに達成するためには、対物レンズの瞳孔、または瞳孔面に対して等価な平面に波面が形成される必要がある。このような波面の形成は、波面一位相変調器によって達成することができる。図1および図1aは、観察される対象物、および図示されていない接眼レンズで観察可能な中間像を生じさせるための円筒レンズのような対物レンズを備えた光学式顕微鏡の画像形成光路の概略図を示す。円筒レンズと対物レンズとの間には、本発明による波面変調器が設けられている。

【0008】対物レンズによって曲げられた波面は、対物レンズの収差が等しくなるように波長変調器によって補正される。計算では、瞳孔における波面の曲率半径が-3.0mから1.5mの間の場合に、焦点は1.5m以上のスライドが可能であることを示している。これは使用される対物レンズに依存し、ここではこの結果は、Epiplan-Neofluarの20x/0.5に関係している。ほとんどの場合、数10マイクロメートルの範囲でのスライドである。すでに数学的計算が示すように、焦点スライドの可能な間隔は、対物レンズが大きくなるにつれて小さくなる。しかし対物レンズは、入射ひとみでこの球面変形波面になるように設計構成されるのではないので、脱焦した場合の対物レンズによる収差は回避不可能である。

【0009】対物レンズに機械的影響を与えないこのような焦点スライドは、いくつかの利点を有する。その1つとして、対物レンズの前面レンズから対象物までの固定した作動距離によって、顕微鏡によって行う対象物へのあらゆる機械的調整が消去されることがある。たとえば、これによってまず可能になるのは、静的に水に浸した対象物を種々の深さで切断した観察面で画像撮影する

ことである。

【0010】このような技術は、対象物の機械的変形や標本に機械的圧力が加わる環境のために今まで成功していなかったものである。顕微鏡の固定作動距離によって、バイオメディカル分野での試料の分析研究にも有利な結果が得られている。マイクロ滴定板を使用する場合に、マイクロ滴定板によって生じる収差の補正も均一に行うことが可能である。マイクロ滴定板は、光学的に光路内に取り込み可能で、そしてその中に顕微鏡の対物レンズ（したがって、たとえば前面レンズ）を部分的に一体化することができる。

【0011】図1bは、波面を円筒レンズの方向に補正する変形可能なミラーを有する光学式顕微鏡の構成を示している。第1および第2の変調装置は、対物レンズと円筒レンズとの間のビーム・スプリッターを経て画像形成に関与している。両変調装置の前には、各々に対して瞳孔調整用の光学系がさらに設けられている。

【0012】この方式の装置については、図7と関連づけてさらに詳しく説明する。波面変調器を通して波面が適当に変形されることにより、標本と試料環境による収差の補正もまた可能となる。これについては、図2に示されている。対物レンズと円筒レンズの間に設置されている波面変調器によって、収差で歪められた波面が補正される。これに対しては、波面補正における球面部分がまだ不十分なので、球面部分が加えられる必要がある。軸対象の収差（球面収差のすべての項がより高次である）に対しては、リング状の光アクチュエータで十分である。角度依存の収差に対しては、部分化したアクチュエータを適用することが必要である（図4）。これらは、互いに同一の波面変調器に組み込むか、あるいは2つの独立の変調器を瞳孔面に設置することができる。前者の場合は、要求される解決に関してアクチュエータの数を2次に段階付け、後者の場合には、1次に段階付けるが、これは電子誘導制御をより効率的にすることを意味する。

【0013】現在の位相変調器は、その振幅と位相勾配に限界があり、これにより、さらに対物レンズの作動点から離れたの収差補正の可能性に限界が生じる。考えられ得る解決策は、アダプティブ光学と従来のガラス系光学機器との組合せである。この場合、後者は大きな位相勾配、またはより大きな波面振幅を発生させるのに寄与し、微調整はアダプティブ光学によって達成される。焦点距離を大きい方向へスライドさせていくと、ひとみで必要な凸波面によって、光の活用量、あるいは利用可能な開口部を減じてしまう状態へ導く1つの減光状態（ヴィニェット）になる。この拘束は、構造によって条件付けられ、今後原則として対物レンズの解釈の際に考慮される。

【0014】焦点をスライドさせる場合に、それを越えて光路中に収差が発生し、これは像を歪ませる可能性の

あるものである。収差を補正するためには、上記に示唆したように波面の非球面部分を重ね合わせることができる。数学的計算では、次数として r^4 と r^6 （より高次の球面収差）の僅かな軸対象部分により、すでに波面における画像の著しい改善が達成されている（整形率98%以上）。この方法のもう1つの利点は、反射に基づいた波面変調器の収色特性にある。メンブレン・ミラーに適切なコーティングを施すと、深い紫外線から遠赤外線までの全スペクトル領域にわたって位相変調できるという点である。色収差は、（吸収効果まで）取り除かれる。この結果から画像生成において新しい色補正特性が得られる。照明光を逐次種々の波長に設定するとともに、波面変調器が個々の波長に対して適切な光学的補正を施すように設定される。これにより、色彩が最適に補正された1組の画像が得られ、これらは重ねられ、より高度な色補正された白色光画像が得られるが、このような補正は、古典的なガラス光学系の適用では達成不可能なものである。原理的にはこの方法で、対物レンズは光スペクトルにおける任意の数の波長について波面変調器を用いて最適補正することができる。

【0015】焦点をスライドし、球面収差を補正するのに必要な波面は、単に軸対象特性を有しているだけである。顕微鏡の対物レンズの瞳孔にこのような波面を生じさせるには、波面における最大勾配は縁部分に現れるので、アダプティブ光学は、光アクチュエータの配置を周辺部へ向かうほど局部頻度が密になるようにする必要がある（図4）。

【0016】図4の図4a-図4cには、局部頻度が増加する種々のアクチュエータ構造を示し、同様に4dには、一例として非点収差とコマ収差を補正するための扇形部分を有するアクチュエータ構造を示している。カメラを装備した画像撮影では、とくに空間解像度が高い場合に画素のミスマッチング効果が生じる。この場合、顕微鏡の像はカメラの画像に対してずれが生じているので、ビデオ信号の個々の画像は空間的にずれている。この問題は画像を形成する信号波面の変化する傾斜部分によって除外される。適当な制御により、画像信号の振動は安定化され、静的な像が生成される。カメラを装備して像を撮影する場合のもう1つの問題は、画像領域の湾曲である。画像形成光路内で波面変調器を利用した場合、その作動中、色補正のようなもう1つのパラメータのコスト負担で画像領域の湾曲は改善される。

【0017】1-2 照明光の光路

照明光の光路に、アダプティブ光学系を組み込むことにより、光学系の柔軟な解釈、顕微鏡の光学的個性の改善、それに新しい照明技術が実現される。観察光の光路においても同様な方法で、波面位相変調器が照明フィラメント（必要があればレーザー）の画像形成を対象物平面内に最適化することができる。同様に、微妙な照明の場合には、対象物空間に対して一様な照明が設定され

る。図3は、照明フィラメントの後に挿入されているコレクターとコンデンサーの間に波面変調器が設置されている場合を示している。波面振幅変調器により照明光は、対象物平面で強度と均質性が空間的に最適化される。原理的には、そのようにして瞳孔への問題着手が実現可能になる。目的とする波面の傾斜部分の変更により、対象物空間の曲がった照明が達成可能となる。

【0018】2. 共焦点顕微鏡とLSMに置ける応用
共焦点顕微鏡への応用は、照明光にレーザー光を使用することにより、古典的な光学式顕微鏡の場合よりも容易に実現可能である。

2-1 照明

照明にレーザーを使用する際に、波面変調器を挿入することは、まず照明フィラメントへの結合するのに有利である。ここでは可変順応光学系が実現可能であるが、最適なフィラメント結合を得るには、その焦点距離と画像形成特性の関係は、レーザーのビーム特性と使用されるフィラメントに依存して設定することができる。同じ原理に基づく設計は、照明用フィラメントを顕微鏡の光学系へ結合する場合にも適用することができる。変調器の敏速性から、時間的に分解された計測と多重操作も実現可能であり、1つ以上のレーザーと種々のフィラメント間を切り換えることが可能になる。

【0019】共焦点による像形成の場合、限定されたピンホールを通しての透過は、動的に順応可能である。焦点の状態も直径も広い限界範囲内で可変である。照明用レーザーは、個別の要求にしたがって最適に調整可能である。さらに、焦点の光構成の輪郭もそのピンホールに適応させることができる。実際に実現されるピンホールでは常に生じるような、軸対象ばかりでなく菱形または長方形の開口のような他の形状の輪郭でも適合し、最大透過、または最小の回折損失となるように最適化される。このような最適化は、一方ではあらかじめ計算したパラメータで静的に設定されるか、または操作中に特定の最適化されるパラメータになるように制御される。

【0020】古典的な顕微鏡の場合と同様に、色補正の設定は使用される照明用レーザーに依存している。レーザー結合と照明および撮像光学系で、高速かつ同期して制御される波面変調器を使用することにより、種々の波長における像を、それぞれ色補正を最適にして逐次撮影することができる。

【0021】

【実施例】波面変調器は、現在種々の形式のものが入手可能である（図5）。したがって、たとえばLCDをベースにした透過式変調器（図5d）、または可動メンブレンを備えた反射式変調器が入手可能である。これらはまた調整要素の方法によって種々異なっている。すなわち、圧電素子制御式（5b）、静電気式（5a）、およびバイモルフ・メンブレン式（5c）である。本発明は一般的には波面変調器に関するが、ここでは静電式メン

ブレン・ミラーが多くの利点を有することから内容の中心になっている。

【0022】このように微細に造られたモノシリックなメンブレン・ミラーは、図6aおよびbにメンブレンはMで、制御電極はEで示されているが、これは、その高い平坦度と反射面の光学的質の良さ($\lambda/20$ より良好)、構造が小さいこと(2-20mm)、低電圧(100V未満)でヒステリシスのない制御性、メンブレンが機械的に高い限界周波数(数MHz)を有すること、リフトが大きいこと(約100 μ m)、さらに小さな曲率半径(1m以下)、および高い空間密度を有し広範囲に可変なアクチュエータ構造、という点で傑出している。この静電式メンブレン・ミラーの大きな利点は、放物線状の形状にするには、単に一定の電位をアクチュエータ電極に印可すればよいという事実にある。ミラーの放物形状は、電極を一定に制御した場合、メンブレンの物理的特性(一定の表面力)から生じるものである。したがって、力学的には小さな制御、すなわち低い印可電圧で大きな位置変化(ミラーのリフト)を達成することができる。

【0023】図7は、とくに多光子励起を目的としたショート・パルス・レーザーを備えたレーザー操作顕微鏡を示す。これについては次項で詳述する。非線形プロセスでは、検出された信号は励起強度のn乗に左右される。励起には高い強度が必要となる。この高い強度は、ショート・パルス・レーザーの使用と、これに続いて顕微鏡の対物レンズで回折を制限して集束させることによって達成される。したがって、設計の目標は、試料内で焦点をできるだけ小さく(理想的)またパルス長をできるだけ短くすることである。そうすることによって、試料内で高い強度が達成可能である。非線形プロセスとしては、たとえば表面第2高調波(SSHG)を発生する多光子吸収、および第2高調波(SHG)時分割式顕微鏡、OBIC、LIVA等がある。本発明は、「2光子顕微鏡」に基づき下記により詳しく記述する。

【0024】WO 91/07651から、2光子レーザー走査顕微鏡が知られているが、これは赤、または赤外線領域の励起波長でピコセカンド以下の領域でのレーザーパルス励起によるものである。EP 666473 A1、WO 95/30166、およびDE 4414940 A1は、ピコセカンド以上の領域でパルス光、または連続光による励起について記載されている。2光子励起の手段で試料を光学的に励起する手順は、DEC 24331570に記載されている。同じ申請者のDE 29609850には、光ファイバーを経由する顕微鏡光路におけるショート・パルス光の結合について記述されている。

【0025】2光子顕微鏡
周知のごとく、2光子蛍光顕微鏡は、従来の1光子蛍光顕微鏡に対して基本的に次の可能性を開いた。すなわ

ち、

1. 下記の利点を有する非線形励起確率 $I_{2hv} = A \cdot (I_{exc})^2$ の実現

05 別
- 共焦点絞りを使用しない3次元弁別、すなわち深度弁別

- セルの色あせ、または破壊はとにかく焦点にだけ生じる

- 改善されたS/N比

- たとえば、非走査検出のような新検出方法の導入

10 【0026】2. フェムト秒のレーザーによるNIR励起は生物学上の標本研究に下記の長所を有する。

- 吸収が少ないため生物学上の標本(700-1400nm)のための光学開口部での作業

15 したがって、この方法は生きた標本の研究にも適している

- 励起電力比較的少ないので、セルへの負荷が低い

- 光の分散が少ないので浸透度が高い

20 3. 紫外線を使用しない、いわゆる紫外線色素による励起は、紫外線用光学部品は必要ないことを意味する。

4. 2光子励起には色素の広帯域スペクトルが存在する。したがって、たった1つの励起波長で多くの異なる色素の励起が可能である。超短パルスが、ある分散媒体、たとえばガラスまたは標本を通過する場合に、とくに次の影響が生じる。

25 【0027】すなわち、

1. 群速度分散(GVD)

フェムト・秒のレーザー・インパルスには、ナノメートル級のパルスを数多く含むスペクトル幅を有している。赤色寄りの波長部分は、青色寄りの波長部分より正の分散媒体(たとえば、ガラス)中をより速く伝搬する。このためにパルスの時間的幅が拡張されることになり、この拡張で尖頭出力または蛍光信号が減少することになる。プリチャージ・ユニット(一對のプリズムや格子、または両者の組合せ)は、負の分散媒体として作用するので、青色寄りの波長部分は、赤色寄りの波長部分よりも速い速度で伝搬する。したがって、プリチャージ・ユニットを使うことにより、群速度分散の補正が可能になる。

40 【0028】2. 伝搬時間差(PTD)

ビームの断面に沿ってのガラスの経路はいろいろである。図4を参照されたい。これによって、焦点が空間的に拡大することになり、これがさらに尖頭出力、あるいは蛍光信号の分解能を減少させてしまう。この影響の補正は、波面変調器(アダプティブ・ミラー)の作用により達成することができる。そのような変調器で励起光路内の波面の位相と振幅に目標通りの影響を及ぼすことができる。変調器としては、反射式光学要素(たとえば、変形可能なミラー)または透過式光学要素(たとえば、LCD)などが考えられる。

50 【0029】3. 拡散、および回折/屈折による波面

の歪み

これらの障害は、まず使用されている光学部品自体、次に標本が原因となる。波面歪みが生じると第2の影響の場合も同様にとにかく理想的な焦点からの変位が生じる。しかしこの影響も波面変調器で補正することができる(第2項参照)。上記の影響は、一般に標本内への浸透深さに左右される。装置には課題、すなわち影響として群速度分散(GVD)と伝搬時間差(PTD)と波面歪みとがあり、これらを補正するには、標本への浸透深さの関数として同時性があるので、標本の焦点内で、しかも浸透深さが大きい場合には短いパルス長と出来る限り理想的に小さい焦点を達成する必要がある。

【0030】装置として可能な構成は、図7に示されている。短パルス・レーザーKPLのビームは、プリチャープ・ユニットPCUに到達し、これからビーム・スプリッターST1およびビーム・スプリッターST2、ST3を経て2つのアダプティブ構成要素AD1、AD2へ到来しここで作動する。第1のAD1(粗)は、波面の粗調整用に挿入されており、これによって、焦点をZ方向へスライドさせることができる。

【0031】第2のAD2(精)では、波面歪みと伝搬時間差(PTD)の影響が補正される。レーザー光は、ビーム・スプリッターDBS、x/y走査ユニット、光学部品SL、TL、ミラーSP、さらにミラーSPおよび対物レンズOLを経由して対象物へ到達する。その対象物から到来する光は、ビーム・スプリッターDBS、レンズL、ピンホールPH、およびフィルターEFを経由して検出器であるPMTへ戻り、この検出器はこれ自体としてPCU、AD1、AD2と同様に制御ユニットに接続されている。これにより、たとえばアダプティブ要素AD1、AD2と同様プリチャープ・ユニットも調整して、検出器PMTに最大信号が加わるようにすることができる。特別な利点は、逆顕微鏡用に示されたビームの光路である。逆顕微鏡では、「下から」観察が行われ、これにより試料の取扱や操作が必要な場合には、それが全面的に容易になる。

【0032】図6には、アダプティブ・ミラーの原理的な構造を示した。同ミラーは、高反射率のメンブレン(たとえば、シリコン硝酸塩)と複数の電極を備えた構造から成り立っている。個々の電極を目標通りに制御することにより対向するメンブレンが変形され、したがってこの変形がレーザー光の位相面に影響を与えることになる。パルスがこのシステムと試料を通過する際に生じる位相面の変形は、このようにして補償される。

【0033】プリチャート・ユニットは、1つ以上のプリズムまたは格子、あるいは両者の組合せで構成することができる。図8は、可能な設計配列を示し、8aには

プリズム付き、8bには格子付き、そして8cにはプリズムと格子付きのものが図示されている。機能としては8aにプリズム・コンプレッサーを使用した例が詳しく記述されている。フェムト・セカンド・レーザーパルスのスペクトル幅は、数ナノメートルである。レーザーパルスが最初のプリズムを通過する際に、そのビーム・スペクトルはその構成要素に分解される。

【0034】続いて、そのスペクトル構成要素は、第2のプリズム内では異なるガラスの経路を通過する。これにより、赤寄りの波長部分は青寄りの波長部分に比べて時間的に遅れが生じる。プリチャープ・ユニットは、これに対して負の分散媒体として作用し、GVDの補正を可能にする。上記の装置を使用するだけで、非線形プロセスに対して励起の利点を完全に利用することができ、試料内への浸透深さを高めるのに低電力のフェムト・セカンド・レーザーの利用が可能になる。このようにして、ごく僅かな励起出力で高い尖頭出力を得ることが技術的に可能になるので、生物学上の標本または試料は、ほとんど手で押さえる必要がなく、光軸方向と横方向について高いS/N比と解像度が達成される。

【図面の簡単な説明】

【図1】光学式顕微鏡の画像形成光路の概略図

【図1a】光学式顕微鏡の画像形成光路の概略図

【図1b】光学式顕微鏡の構成

25 【図2】光学式顕微鏡の観察光における位相変調器

【図3】光学式顕微鏡の画像形成光路の概略図

【図4】アクチュエータの構造

30 【図5】波面変調器(5a)静電式ミラー(5b)圧電素子ミラー(5c)バイモルフ・ミラー(5d)透過式変調器

【図6】メンブレン・ミラーの原理的構成

【図7】制御構成

【図8】設計配列

【符号の説明】

35 KPL 短パルスDレーザー

PCU プリチャープ・ユニット

ST1、ST2、ST3 ビーム・スプリッター

AD1、AD2 アダプティブ構成要素

DBS ビームスプリッター

40 SK、TL 光学部品

SP ミラー

OL 対物レンズ

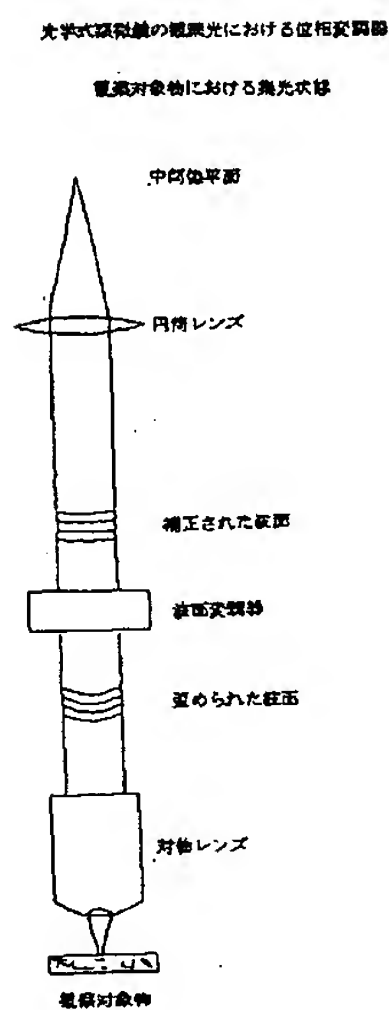
L レンズ

PH ピンホール

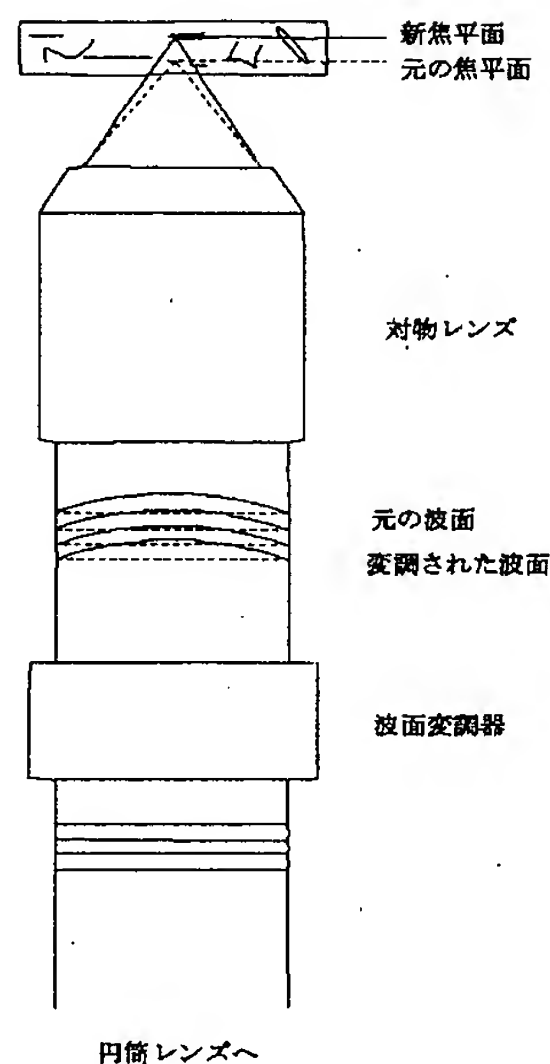
45 EF フィルター

PMT 検出器

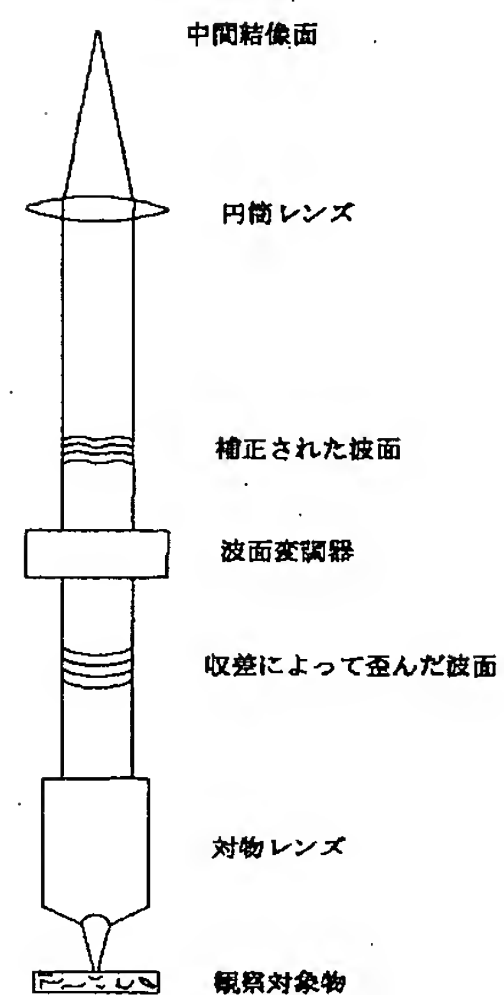
【図 1】



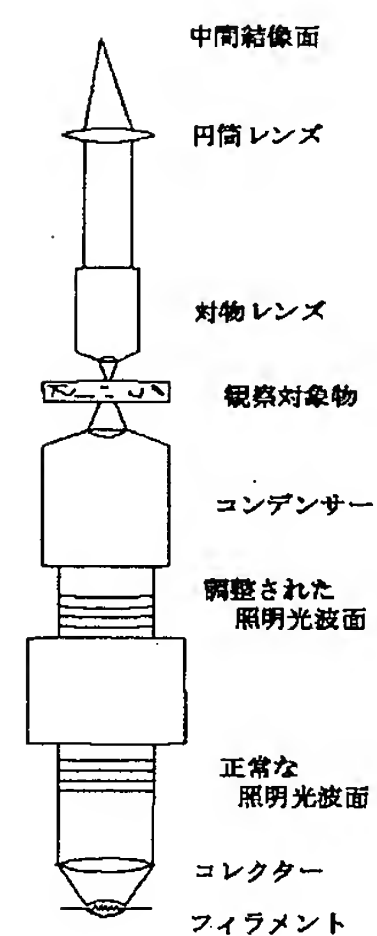
【図 1a】



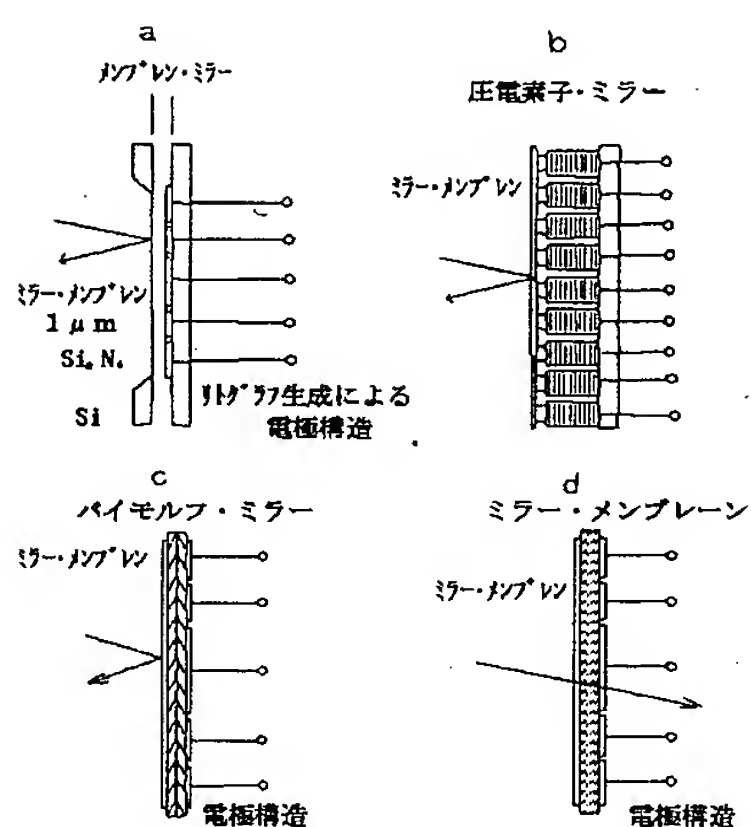
【図 2】



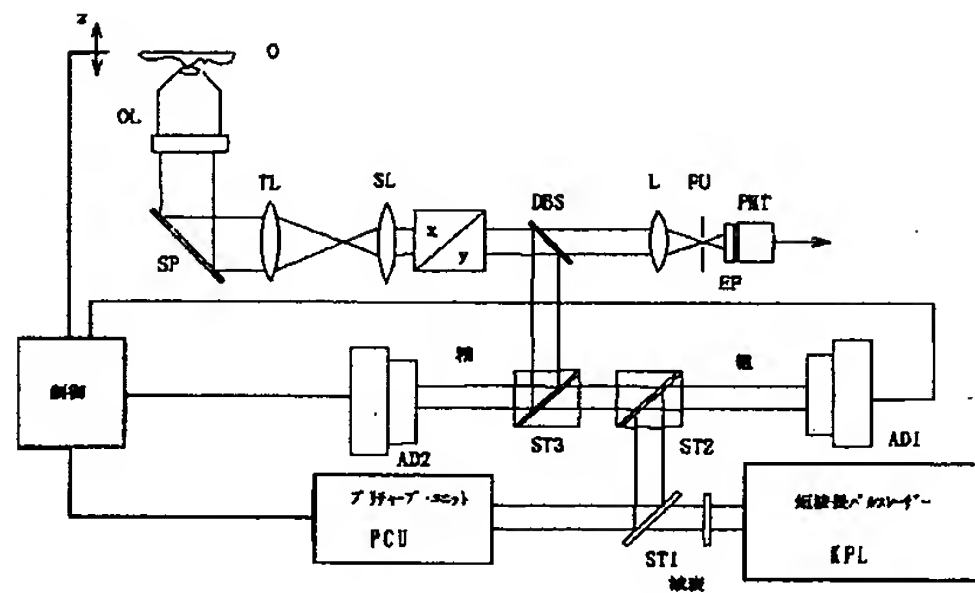
【図 3】



【図 5】



【図7】



フロントページの続き

(72)発明者 ウルリッヒ シモン (氏名原語表記)
Ulrich Simon
ドイツ国 D-07751 ローテンスタイン
ブルグストラッセ 35 (住所又は居所
原語表記) Burgstr. 35, D-
07751 Rothenstein, Ge-
rmany
(72)発明者 ラルフ ヴォレシエンスキー (氏名原語
表記) Ralf Wolleschen 30
sky
ドイツ国 D-99510 シェッテン アン
デル プロムナーデ 3 (住所又は居
所原語表記) An der Prome-
nade 3, D-99510 Schoe 35
ten, Germany
(72)発明者 マルティン グルヒ (氏名原語表記)
Martin Gluch
ドイツ国 D-07743 イエナ リカル
ダ・フッヒ・ヴェーク 5 (住所又は居 40
所原語表記) Ricarda-Huch-
Weg. 5, D-07742 Jena,
Germany

(72)発明者 ロベルト グルブ (氏名原語表記) R
obert Grub
ドイツ国 D-073540 ホイバッハ ラウ
テナー ストラッセ 38 (住所又は居所
原語表記) Lautener Str.
38, D-73540 Heubach,
Germany
(72)発明者 アンドレアス ファウルスティッヒ (氏
名原語表記) Andreas Faul-
stich
ドイツ国 D-73432 アーレン ケーニ
ッヒスベルガーゲストラッセ 7/1
(住所又は居所原語表記) Koenigs-
berger Str. 7/1, D-
73432 Aalen, Germany
(72)発明者 マルティン フェルカー (氏名原語表
記) Martin Voelcker
ドイツ国 D-89551 ケーニックスブロ
ン・ザング ザンゲルハウプストラッセ
15 (住所又は居所原語表記) Zange-
r Hauptstr. 15, D-
89551 Koenigsbronn-Za-
ng, Germany

a.

Japanese Patent Application Unexamined Publication (KOKAI)
No. Hei 11-101942 (Abridged Translation)

[0005]

[Prior Art]

Related patents that have heretofore been laid open to the public are as follows:

- United States Patent US 4408874, W. Zinky and L. Rosenberg (1981/83):

A mechanically or pneumatically deformable optical element for adjusting the astigmatic magnification for use in an image reconstruction system in lithography.

- European Patent EPO 0098969B1, J. Arnaud (1983/87):

A deformable optical element for astigmatism adjustment. When an external force is applied to a mirror membrane, the thickness of the mirror membrane changes on the surface so that the mirror membrane changes into a previously computed configuration.

- European Patent EPO 0307354B1, H. Choffat (1988/92):

A ring-shaped array of bimorph piezoelectric thin-film elements to precisely adjust an objective lens or other constituent elements of a microscope in the axial direction, by way of example.

- United States Patent US 5142132, B. MacDonald, R. Hunter and A. Smith (1991/92):

An adaptive-controlled optical system for use in the manufacture of wafers (stepper: step-and-repeat photolithographic system). Correction is attained by

interference between reflected light from a wafer and the original light. No precise description of a method for aberration correction is given.

- German Patent DE 3404063C2, A. Suzuki and M. Kohno (1984/93):

A refractive transmission membrane for use in an optical path of an image reconstruction system to correct image reconstruction errors, particularly a lateral focal shift.

- United States Patent US 5504575, R. Stafford (1993/96):

A spectroscope based on a three-dimensional light modulator and a dispersing element. The spectroscope includes a fiber used to couple light to a detector after it has passed through the dispersing element; an optical switch; and a flexible mirror.

- European Patent EPO 167877, Bille, Heidelberg Instruments GmbH (filed in 1985):

An ophthalmoscope having an adaptive mirror.

[0011]

Fig. 1b shows the arrangement of an optical microscope having a deformable mirror for correcting the wavefront in the direction of a cylindrical lens. First and second modulators pertain to image formation through a beam splitter between an objective and the cylindrical lens. Further, optical systems for pupil adjustment are provided in front of the first and second modulators, respectively.

[0012]

The system of this type will be described more specifically in connection with Fig. 7. The wavefront is appropriately deformed through the wavefront modulator, thereby also allowing correction of aberrations due to the sample and the sample environment. This is shown in Fig. 2. The wavefront modulator installed between the objective and the cylindrical lens corrects the wavefront distorted by the aberrations. In this regard, because the spherical portion in the wavefront correction is still insufficient, a spherical portion needs to be added. For axially symmetric aberration (all the terms of spherical aberration are of higher order), it is sufficient to use a ring-shaped optical actuator. For angle-dependent aberration, it is necessary to apply a segmented actuator (Fig. 4). These actuators can be incorporated in the same wavefront modulator. Alternatively, two independent modulators may be installed in the pupil plane. In the former case, the actuator numbers are quadratically ranked in regard to the demanded resolution; in the latter case, the actuator numbers are linearly ranked. This means that electronic induction control is made even more efficient.

[0018] 2. Application in confocal microscopes and LSMs

The application to a confocal microscope can be realized more easily than in the case of a classical optical microscope by using a laser beam as illuminating light.

2-1 Illumination

When a laser is used for illumination, insertion of a wavefront modulator is advantageous in coupling to an illuminating filament. Here, a variable adaptive optical system can be realized. To obtain optimum filament coupling, the relationship between the focal length thereof and the image-forming characteristics can be set in dependence on the beam characteristics of the laser and the filament used. Design based on the same principle can be applied to a case where a filament for illumination is coupled to the optical system of a microscope. By virtue of the rapidness of the modulator, time-resolved measurement and multiple operation can also be realized. It becomes possible to switch between at least one laser and various filaments.

[0019]

In the case of confocal image formation, transmission through a limited pinhole is dynamically adaptable. The focus condition and diameter are also variable in a wide limit range. The laser for illumination is optimally adjustable according to each individual demand. The contour of optical configuration of the focus can also be adapted to the pinhole. In the actually realized pinhole, optimization is effected so that not only an axially symmetric contour as always occurs but also a contour of other configuration such as a rhombic or rectangular aperture is adapted to obtain a maximum transmission or a minimal diffraction loss. Such

optimization is statically set with previously computed parameters, or controlled during operation so that specific optimized parameters are obtained.

[0020]

Color correction setting depends on the illuminating laser used, as in the case of classical microscopes. The use of wavefront modulators, which are controlled at high speed and synchronously, in laser coupling and the illuminating and image-pickup optical systems allows images at various wavelengths to be taken sequentially with color correction optimized for each image.

[0030]

An arrangement implementable as a system is shown in Fig. 7. A beam from a short-wavelength pulse laser KPL reaches a prechirp unit PCU, from which the beam passes through a beam splitter ST1 and beam splitters ST2 and ST3 to arrive at two adaptive constituent elements AD1 and AD2 where it operates. The first AD1 (coarse) is inserted for coarse adjustment of the wavefront, whereby the focal point can be made to slide in the Z-direction.

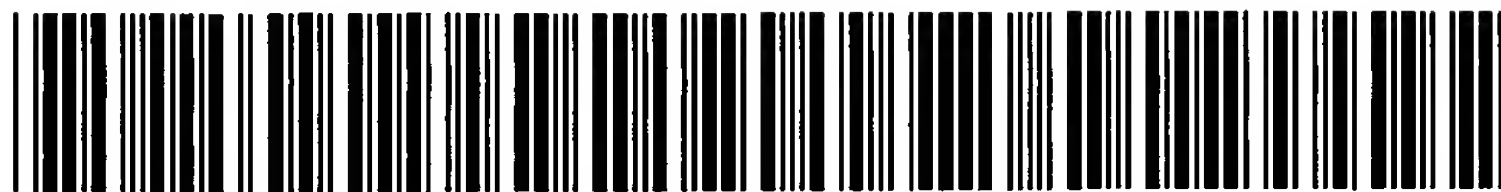
[0031]

The second AD2 (fine) corrects the wavefront distortion and the influence of propagation time difference (PTD). The laser beam reaches the object via a beam splitter DBS, an x/y scanning unit, optical parts SL and TL, a mirror SP and further a mirror SP and an objective lens OL. Light from the object returns to a PMT

as a detector via the beam splitter DBS, a lens L, a pinhole PH and a filter EF. The detector per se is connected to a control unit as in the case of PCU, AD1 and AD2. Thus, the prechirp unit can be controlled in the same way as the adaptive elements AD1 and AD2, for example, so that a maximum signal is applied to the detector PMT. A special advantage is the optical path of the beam that is shown for an inverted microscope. In the inverted microscope, observation is performed from "below". Thus, handling and manipulation of the sample, when necessary, are facilitated extensively.

[0032]

Fig. 6 shows a basic structure of an adaptive mirror. The mirror comprises a structure having a membrane of high reflectance (e.g. silicon nitrate) and a plurality of electrodes. By controlling each individual electrode as desired, the opposing membrane is deformed. Accordingly, the deformation exerts an influence upon the phase surface of the laser beam. Thus, the deformation of the phase surface occurring when the pulse passes through the system and the sample is compensated.



Creation date: 01-09-2004

Indexing Officer: PPHANOHTHACHAT - PHANYAMOL PHANOHTHACHAT

Team: OIPEBackFileIndexing

Dossier: 10025973

Legal Date: 01-28-2002

No.	Doccode	Number of pages
1	CTMS	2

Total number of pages: 2

Remarks:

Order of re-scan issued on